

Aus der Abteilung für Experimentelle Endokrinologie,
Universitäts-Frauenklinik
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

**IN – VIVO PERFUSION DER MENSCHLICHEN
SCHILDDRÜSE MIT 4-¹⁴ C-DEHYDROEPIANDRO-
STERON UND 7a-³ H-DEHYDROEPIANDROSTERON –
SULFAT**

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin der
Johannes-Gutenberg-Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Gerhard Schneider
aus Bauzing/Passau

Mainz 1974

Aus der Abteilung für Experimentelle Endokrinologie,
Universitäts - Frauenklinik
der Johannes Gutenberg - Universität Mainz.

IN - VIVO PERFUSION DER MENSCHLICHEN SCHILDDRÜSE MIT
 $4\text{-}^{14}\text{C}$ -DEHYDROEPIANDROSTERON UND $7\alpha\text{-}^3\text{H}$ -DEHYDROEPI-
ANDROSTERON - SULFAT

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin der
Johannes Gutenberg - Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von

Gerhard Schneider

aus Bauzing / Passau

Mainz 1974



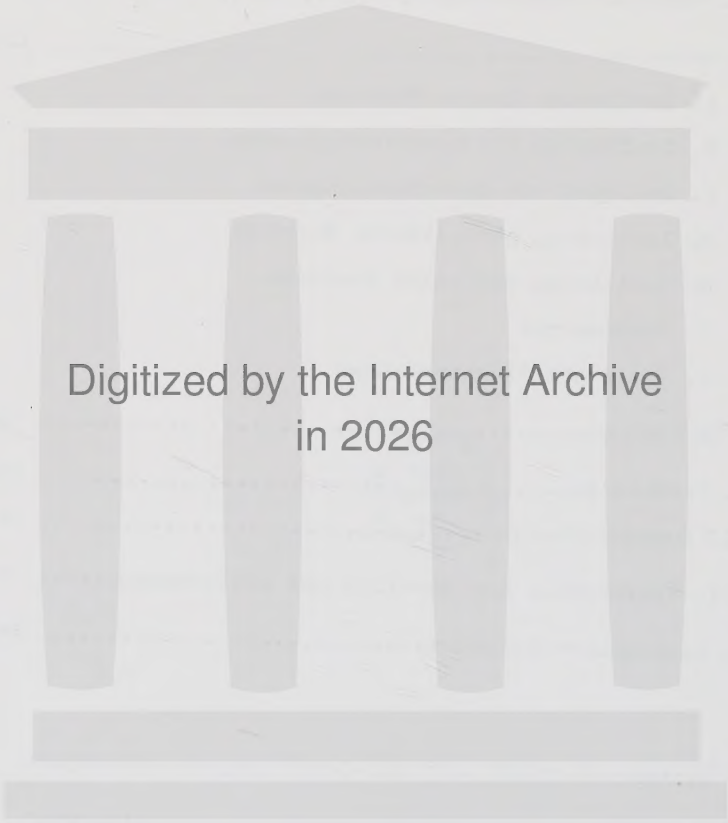
Fachbereichsdekan: Professor Dr. Heinz Langendorf

Referent: Professor Dr. Georg W. Oertel

Korreferent: Professor Dr. Volker Friedberg

INHALTSÜBERSICHT:

I. Einleitung.....	1-4
II. Trivialnamen und chemische Bezeichnungen.....	5
III. Untersuchungsmaterial.....	6
IV. Methodik.....	7-15
A. Isolierung freier Steroide	
B. Isolierung von Steroidkonjugaten	
C. Spaltung von Steroidkonjugaten	
D. Isolierung phenolischer Steroide	
E. Isolierung neutraler Steroide	
F. Photometrie	
G. Radioaktivitätsmessungen	
V. Ergebnisse.....	16-20
VI. Diskussion.....	21-23
VII. Zusammenfassung.....	24
VIII. Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen.....	25
IX. Literaturverzeichnis.....	26-34



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552628_0091

I. EINLEITUNG

Die ersten Hinweise auf das Vorkommen von Dehydroepiandrosteron lieferten BUTENANDT und TSCHERNIG 1934, als es ihnen gelang, dieses Steroid aus menschlichem Urin zu isolieren (7). Dehydroepiandrosteron stammt aus der Nebennierenrinde, wo auch das als seine Vorstufe geltende Pregnenolon gebildet wird (8,17,18).

1959 konnte BAULIEU ein Sulfokonjugat des Dehydroepiandrosterons, das Dehydroepiandrosteron-sulfat, nachweisen (1). 1963 demonstrierte BAULIEU den direkten Metabolismus dieses Sulfokonjugates (2).

OERTEL und Mitarbeiter zeigten jedoch, daß das im menschlichen Plasma enthaltene sulfokonjugierte Dehydroepiandrosteron teilweise in einer wesentlich wirksameren Form vorliegt. Es handelt sich dabei um ein Diglyceridschwefelsäureester, der als Sulfatid bezeichnet wurde. 1965 konnten OERTEL und Mitarbeiter dieses Konjugat aus menschlichem Nebennierengewebe, Plasma und Liquor isolieren (28).

Versuche an Meerschweinchen zeigten, daß die Steroidsulfatide aus den Steroid-sulfaten entstehen (27).

Die Steuerung der Produktion von Dehydroepiandrosteron und Dehydroepiandrosteron-sulfatid ist von ACTH, in gewissem Umfang aber auch von den Gonadotropinen abhängig (9). Dehydroepiandrosteron erreicht im Plasma gesunder Männer und Frauen Werte bis zu 250 ug bzw. 150 ug/100 ml Plasma (1).

Im menschlichen Blut sind sowohl das freie Steroid als auch das Sulfatid offenbar an ein Protein der Albuminfraktion (Postalbumin) gebunden (36).

Der Nachweis einer Bildung von Androgenen und Oestrogenen aus den Sulfokonjugaten des Dehydroepiandrosterons ließ sich experimentell sichern (6,26,30).

Es ist bekannt, daß Dehydroepiandrosteron wie auch Dehydroepiandrosteron-sulfatid die Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase, das Schlüsselenzym des Pentose-Phosphat-cyclus, hemmen (3,4,19,20,21,22,23,24,33,34,37,38).

Dem Dehydroepiandrosteron und seinem Sulfatid kommen physiologischerweise wahrscheinlich zwei Stoffwechselfunktionen zu: zum einen die Regulation der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase, zum anderen stellt es eine mögliche Vorstufe von Androgenen und Oestrogenen dar.

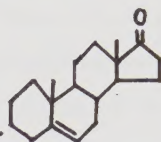
Ein Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenasemangel soll nach SONKA und anderen ein gemeinsamer pathogenetischer Faktor für verschiedene Krankheiten sein, z.B.: vorzeitige Arteriosklerose, manche Formen der Hypertension, ein auf Insulin schlecht ansprechender Diabetes mellitus, Gicht und gewisse Formen der Fettsucht (42).

Verschiedene Autoren sehen auch in einem pathogenetischen Dehydroepiandrosteronmangel einen Faktor für die Entstehung der Psoriasis vulgaris (5,10, 11,12,13,14,35).

Was den Metabolismus des Dehydroepiandrosterons und seiner Sulfokonjugate angeht, so wurde dieser an verschiedenen menschlichen Organen durch in-vivo Perfusionen überprüft (15,16,25,29,31,32,39,40).

Abb.2.

Dehydroepiandrosteron und seine Stoffwechselprodukte:



Strukturformel: R - O

Freies Steroid: R = -H

Steroid-sulfat: R = $-\text{SO}_3^-$

$\text{CH}_2 - \text{O} - \text{CO} - \text{R}_1$

$\text{CH} - \text{O} - \text{CO} - \text{R}_2$

Steroid-sulfatid: R = $-\text{SO}_3 - \text{CH}_2$

Steroid-glucuronosid: R = $-\text{CH}_2 - (\text{CHOH})_4 - \text{COO}^-$

II. Trivialnamen und chemische Bezeichnung der in dieser Arbeit vorkommenden Steroide.

Ätiocholanolon	3 α -Hydroxy-5 β -androstan-17-on
Androsteron	3 α -Hydroxy-5 α -androstan-17-on
Androstendiol	5-Androsten-3 β ,17 β -diol
Androstentriol	5-Androsten-3 β ,16 α ,17 β -triol
Androstendion	4-Androsten-3,17-dion
Dehydroepiandrosteron	3 β -Hydroxy-5-androsten-17-on
16-OH-Dehydroepiandrosteron	3 β ,16 α -Dihydroxy-5-androsten-17-on
Östron	3-Hydroxy-1,3,5-östratrien-17-on
Östradiol	1,3,5-Östratrien-3,17 β -diol
Östriol	1,3,5-Östratrien-3,16 α ,17 β -triol
Testosteron	17 β -Hydroxy-4-androsten-3-on
Pregnenolon	3 β -Hydroxy-5-pregnen-20-on

III. Untersuchungsmaterial

Die Perfusion wurde bei einer 47 Jahre alten Patientin mit euthyreoter Struma durchgeführt.

Eine Strumahälfte wurde abpräpariert und extirpiert, die andere Hälfte vom venösen Anteil her unterbunden.

In die noch verbliebene funktionsfähige Arteria thyroidea inferior injizierte man anschließend

2,82 ug 4- ^{14}C -Dehydroepiandrosteron mit 495 000 Ipm ^{14}C und 0,07 ug 7 α - ^3H -Dehydroepiandrosteron-sulfat mit 2 810 000 Ipm ^3H in 1,0 ml phys. Kochsalzlösung, wobei eine vorher punktierte Vene als Abfluß diente.

Es wurden insgesamt 5 Blutproben aus dieser Vene entnommen (S-1 - S-5), heparinisiert und das abzentrifugierte Plasma aufgearbeitet.

Die erste Plasmaprobe erfaßte die ersten 10 Minuten nach Injektion des Substrats, die Proben S-2 bis S-5 jeweils weitere fünf Minuten.

Schließlich entnahm man im Zeitraum zwischen der neunten und vierzehnten Minute eine periphere Blutprobe (P-1), aus der sich 8,8 ml Plasma gewinnen ließen.

IV. Aufarbeitung

A. Isolierung freier Steroide

Die Plasmaproben S-1 bis S-5 und P-1 wurden dreimal mit je 2 Vol. Äther extrahiert, um die gesamten freien Steroide zu gewinnen. Die Ätherextrakte wurden sodann zwecks Abtrennung der Östrogene mit 10 ml 1N Natronlauge und anschließend mit Wasser bis zu neutraler Reaktion gewaschen, wobei man das erste Waschwasser mit dem alkalischen Extrakt vereinigte. Der Ätherextrakt mit den neutralen Steroiden wurde zur Trockne gebracht, die alkalische Phase dagegen mit konz. Salzsäure angesäuert, mittels Natriumbicarbonat auf pH 8 - 8,5 gebracht und anschließend dreimal mit je 15 ml Äther extrahiert. Dieser die Östrogene enthaltende Ätherextrakt wurde ebenfalls eingedampft. Von den Fraktionen der freien neutralen und phenolischen Steroide entnahm man anschließend 1/10 zur Radioaktivitätsmessung.

B. Isolierung von Steroidkonjugaten

Die präextrahierten Proben wurden zur Eiweißfällung mit je vier Volumen Aceton versetzt und 60 Minuten bei 37°C inkubiert. Das ausgefällte Eiweiß wurde abzentrifugiert und der Überstand dekantiert. Das Dekantat verdünnte man mit acht Volumen Diisopropyläther sowie zwei Volumen Butanol-(2) - bezogen auf das Ausgangsvolumen der Probe - versetzte mit genügend wasserfreiem Natriumsulfat und filtrierte nach weiteren 60 Minuten bei 37°C.

Der Filtrerrückstand wurde mit wenig Diisopropyläther-Butanol-(2) (4:1 v/v) gewaschen und das entwässerte Filtrat anschließend im Rotationsverdampfer bei maximal 37°C zur Trockne gebracht.

Die Abtrennung der Steroid-sulfatide von Steroid-sulfaten und Steroid-glucuronosiden erfolgte mittels Säulenchromatographie an Polyamid; die Trennung von Steroid-sulfaten und Steroid-glucuronosiden dagegen mittels Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel.

Hierzu überführte man den Rückstand des Plasmaextraktes mit wenig Cyclohexan-Diisopropyläther (1:1 v/v) quantitativ auf die im gleichen Lösungsmittelgemisch zubereitete Säule (für Extrakte aus 10 ml Plasma 0,75 x 7,5 cm) aus Polyamid-SC-6 (Machery, Nagel & Co., Düren). Die Elution der Säule erfolgte mit 50 ml Cyclohexan-Diisopropyläther (1:1 v/v), sowie mit 25 ml Methanol und 25 ml Methanol-Salzsäure (99:1 v/v).

In den beiden ersten Eluatzen befinden sich die Steroid-sulfatide, im letzten Eluat aber Steroid-sulfate und -glucuronoside. Die jeweiligen Extrakte wurden zur Trockne eingedampft.

Der Rückstand mit Steroid-sulfaten und Steroid-glucuronosiden wurde in wenig Chloroform-Methanol (1:1 v/v) aufgenommen und quantitativ auf eine Dünnschichtplatte mit aktiviertem Kieselgel-G (0,25 mm) überführt. In gleicher Weise wurden zu beiden Seiten der Probe 10 µg Dehydroepiandrosteron-sulfat als Standard aufgetragen.

Die Entwicklung des Chromatogramms erfolgte in Chloroform-Methanol-Ammoniak (15:5:0,2 v/v) und gestattete eine einwandfreie Trennung von Steroid-sulfaten und Steroid-glucuronosiden. Die Elution der entsprechenden Fraktionen geschah mit Chloroform-Methanol (1:1 v/v). Anschließend wurden die Proben zur Trockne eingedampft und 1/10 der Radioaktivitätsmessung zugeführt.

C. Spaltung von Steroidkonjugaten

Steroid-sulfatide und Steroid-sulfate ließen sich mittels Solvolyse in Äther-Perchlorsäure spalten, während man die Steroid-glucuronoside durch Bebrütung mit Helicase hydrolysierte.

Der Rückstand der Sulfokonjugate wurde in 30 ml Äther-Perchlorsäure (100:1 v/v) gelöst und die Lösung bei 37°C kurz zum Sieden gebracht. Anschließend verschloß man die Röhrchen mit Plastikstopfen und inkubierte 24 Std. bei 37°C. Im Anschluß an die Spaltung wurde die Ätherphase mit 10 ml Wasser zur Entfernung der Perchlorsäure gewaschen. Für die Extraktion der phenolischen Steroide(Östrogene) aus der Ätherphase genügten 10 ml 1N Natronlauge. Die Proben wurden sodann dreimal mit Wasser bis zu neutraler Reaktion gewaschen, das erste Waschwasser mit der Natronlauge vereinigt, und die Ätherphase mit den neutralen Steroiden schließlich zur Trockne eingedampft.

Die Extraktion der Östrogene aus der alkalischen Phase erfolgte wie unter der Isolierung der freien Steroide beschrieben. Der Rückstand mit Steroid-glucuronosiden wurde in 10 ml 1N Acetatpuffer von pH 4,5 gelöst. Nach Zugabe von 5000 IE Sulfatase und 10 000 IE Glucuronidase wurden die Röhrchen 48 Std. bei 37°C bebrütet.

Freigesetzte Steroide extrahierte man mit dreimal 15 ml Essigsäureäthylester. Die Entfernung der Östrogene aus dem Extrakt erfolgte wie oben angegeben durch 10 ml 1 N Natronlauge. Die Essigsäureäthylesterlösung dampfte man nach vorherigem dreimaligen Waschen mit Wasser dann zur vollständigen Trockne ein.

D. Isolierung phenolischer Steroide (Östrogene)

Die Östrogene aus den Fraktionen der freien Steroide, Steroid-sulfatide, Steroid-sulfate und Steroid-glucuronoside wurden folgendermaßen in Einzelverbindungen zerlegt:

Der Rückstand der einzelnen Proben wurde mit Chloroform-Methanol (1:1 v/v) auf Kieselgel-Fertigplatten (F₂₅₄ E. Merck; Schichtdicke 0,25 mm) aufgetragen und im System Cyclohexan-Essigsäureäthylester (1:1 v/v) aufsteigend chromatographiert. Als Testsubstanzen dienten Östron, Östradiol und Östriol. Zum Anfärben benutzte man die Berliner-Blau-Reaktion. Die entsprechenden Abschnitte wurden sodann abgekratzt, mit Chloroform-Methanol (1:1 v/v) eluiert und die Eluate eingedampft. Es folgte die Messung der ³H-Aktivität in einer Hälfte jeder Probe, während die andere Hälfte zwecks zusätzlicher Reinigung der Acetylierung zugeführt wurde. Bei Östrogenen aus der Glucuronosidfraktion verzichtete man auf diese zusätzliche Reinigung, da die Radioaktivitätsmessung eine zu geringe Impulsrate ergab.

Zur Acetylierung wurden die Proben nach Zugabe von 0,5 ml Pyridin und 0,5 ml Essigsäureanhydrid eine Stunde bei 70°C im Wasserbad inkubiert. Anschließend versetzte man die Proben mit 5 ml Wasser und extrahierte zweimal mit Hexan, wobei man beim ersten Mal 25 ml und beim zweiten Mal 15 ml Lösungsmittel verwendete.

Die Hexanphase wurde mit 10 ml 8%igem Natriumbicarbonat und dreimal mit je 10 ml Wasser gewaschen und zur Trockne eingedampft.

Für die Dünnschichtchromatographie der Acetate auf Kieselgel-Fertigplatten (F₂₅₄ E. Merck; Schichtdicke 0,25 mm) eignete sich das Lösungsmittelsystem Cyclohexan-Essigsäureäthylester (7:3 v/v). Als Testsubstanzen dienten wiederum Östron, Östradiol und Östriol, die wie die Proben einer Acetylierung unterworfen worden waren. Die Anfärbung der Testsubstanzen erfolgte mit konz. Schwefelsäure. Die entsprechenden Abschnitte wurden mit Chloroform-Methanol (1:1 v/v) eluiert und die Östrogenacetate in den Eluaten schließlich der Radioaktivitätsmessung unterworfen.

E. Isolierung neutraler Steroide

Die neutralen Steroide aus den Fraktionen der freien Steroide, Steroid-sulfatide, Steroid-sulfate und Steroid-glucuronoside wurden wie folgt isoliert:

Zur Abtrennung der nicht-ke-tonischen Steroide wurde der Rückstand der jeweiligen Fraktionen auf Fertigplatten mit Kieselgel (F₂₅₄, E. Merck; Schichtdicke 0,25 mm) mittels wenig Chloroform-Methanol (1:1 v/v) überführt und mit entsprechenden Standardsteroiden zu beiden Seiten im System Chloroform-Dioxan (94:6 v/v) chromatographiert. Die Zonen mit Androstendiol und Androstentriol ließen sich durch Anfärben der jeweiligen Standards mit konz. Schwefelsäure festlegen. Die Elution dieser Fraktionen erfolgte mit Chloroform-Methanol (9:1 v/v).

Androstendiol und Androstentriol wurden anschließend zwecks zusätzlicher Reinigung acetyliert. Man löste die Trockenrückstände in 0,5 ml Pyridin und 0,5 ml Essigsäureanhydrid, inkubierte eine Stunde bei 70°C und versetzte anschließend mit 5,0 ml Wasser. Es folgte eine dreimalige Extraktion mit je 10,0 ml Hexan. Die Hexanphase wurde sodann mit 8%igem Natriumbicarbonat und dreimal mit Wasser gewaschen. Schließlich unterwarf man den Trockenrückstand der eingedampften Proben einer erneuten Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel (F₂₅₄, E. Merck; Schichtdicke 0,25 mm) und entwickelte im System Cyclohexan-Essigsäureäthylester (7:3 v/v). Die entsprechenden acetylierten Standardverbindungen zu beiden Seiten der Proben färbte man mit konz. Schwefelsäure an.

Für die Elution der beiden Fraktionen benutzte man Chloroform-Methanol (9:1 v/v). Die ³H-Aktivität der Derivate wurde schließlich gemessen.

Die bei der ersten Chromatographie anfallenden ketonischen Steroide: Dehydroepiandrosteron, Ätiocholanolon, Testosteron, Androsteron und Androstendion wurden nach Elution von störendem Kieselgel befreit, in dem man das Gemisch dieser Steroide in Essigsäureäthylester löste, mit 0,1 N Salzsäure und Wasser extrahierte und die organische Phase anschließend zur Trockne eindampfte.

Zu den Trockenrückständen gab man 0,1 ml 0,2 %iges 2,4- Dinitrophenylhydrazin in Äthylacetat, dampfte zur Trockne ein und löste sodann in 1,0 ml 0,03 %iger Trichloressigsäure in Benzol. Nach 15 Minuten wurden die Proben im Luftstrom zur Trockne gebracht.

Der Rückstand der einzelnen Reaktionsgemische wurde sofort auf Kieselgelplatten (F₂₅₄, E. Merck; Schichtdicke 0,25 mm) mit Hilfe von wenig Chloroform überführt. Zu beiden Seiten der Proben wurden 10 µg der jeweiligen 2,4- Dinitrophenylhydrazone als Standard aufgetragen. Die Entwicklung des Chromatogramms erfolgte im System Chloroform-Dioxan (94:6 v/v), welches eine einwandfreie Trennung der Derivate von Dehydroepiandrosteron, Ätiocholanolon, Androsteron und Androstendion gestattet.

Aus der Fraktion des 16-Keto-androstendiols konnte durch diese Dünnschichtchromatographie der störende Reagenzüberschuß entfernt werden. Die Elution der einzelnen Fraktionen wurde mit Methylenchlorid-Methanol (9:1 v/v) durchgeführt. Da Testosteron-2,4- dinitrophenylhydrazon bei der Dünnschichtchromatographie den gleichen R_F - Wert besitzt wie Ätiocholanolon-2,4- dinitrophenylhydrazon, bedurfte es einer weiteren Dünnschichtchromatographie auf Polyamid - Fertigplatten (Schleicher & Schüll), um beide Derivate voneinander zu trennen.

Außerdem konnten durch eine derartige Chromatographie die anderen Derivate einer weiteren Reinigung unterzogen werden. Hierzu wurde der Rückstand der einzelnen Proben mit wenig Chloroform auf Polyamid - Fertigplatten (Schleicher & Schüll) überführt und zusammen mit entsprechenden Standardderivaten zu beiden Seiten der jeweiligen Probe im System

Methanol-Trichloräthylen (8:2 v/v) chromatographiert.

Die Elution der entsprechenden Fraktionen wurde mit

Methylenchlorid-Methanol (9:1 v/v) durchgeführt.

Zur quantitativen Bestimmung der einzelnen Derivate wurden

die Trockenrückstände der Eluate der Photometrie im

Beckmann - Spektralphotometer DK-2 unterworfen und

anschließend ihre ^3H - Aktivität gemessen.

F. Photometrie

Zur quantitativen Messung der Steroid- 2,4- dinitrophenyl-

hydrazone wurden die Trockenrückstände der einzelnen Proben

in 3,0 ml Chloroform aufgenommen. Die Derivate von Dehydro-

epiandrosteron, Ätiocholanolon und Androsteron wurden im

Spektralphotometer bei einer Wellenlänge von 330, 362

und 394 nm, Testosteron bei 350, 382 und 414 nm, Androsten-

dion dagegen bei 340, 372 und 404 nm photometriert.

Nach Korrektur der maximalen Absorbtion von Dehydroepi-

androsteron-, Ätiocholanolon- und Androsteron- 2,4- dinitro-

phenylhydrazon gemäß der Formel:

$$\text{Abs.}_{362} \text{ korr.} = 2 \times \text{Abs.}_{362} - (\text{Abs.}_{330} + \text{Abs.}_{394})$$

ließ sich die Konzentration errechnen, wobei die

korrigierte Absorbtion von 0,033 jeweils 1,0 ug Dehydro-

epiandrosteron, Ätiocholanolon oder Androsteron entsprach.

Die Konzentration des Testosteron- 2,4- dinitrophenyl-

hydrazons ließ sich nach der Formel:

$$\text{Abs.}_{382} \text{ korr.} = 2 \times \text{Abs.}_{382} - (\text{Abs.}_{350} + \text{Abs.}_{414})$$

bestimmen. In diesem Falle entsprach die korrigierte

Absorbtion von 0,044 dann 1,0 ug Testosteron. Für die

Berechnung der Konzentration des Androstendion- bis- 2,4-

dinitrophenylhydrazons benutzte man die Formel:

$$\text{Abs.}_{372} \text{ korr.} = 2 \times \text{Abs.}_{372} - (\text{Abs.}_{340} + \text{Abs.}_{404})$$

wobei 1,0 ug Androstendion als Derivat die korrigierte Absorbtion von 0,048 besaß.

G. Radioaktivitätsmessung

Die Messung der Radioaktivität in den Trockenrückständen der verschiedenen Steroidfraktionen erfolgte unter Verwendung von 0,4 % 2,5-Diphenyl-oxazol (POP) und 0,01 % 1,4-Bis-2-(4-methyl-5-phenyl-oxazolyl)- benzol (Dimethyl-POPOP, Packard Instruments Comp., La Grange, ILL., USA) in Methanol - Toluol (1:200 v/v) als Szintillationsflüssigkeit im Packard Tricarb Szintillationszähler vom Typ 314 EX-2.

Die Berechnung der Impulse von ^3H und ^{14}C wurde nach OKITA und anderen vorgenommen (41).

V. ERGEBNISSETab.1. Freie Steroide und Steroid-sulfate in venösem
Schilddrüsen- und peripherem Plasma.

PROBE	ZEIT	ml	Freie Steroide		Steroid-sulfate	
	Min.		cpm $\frac{^3\text{H}}{^{14}\text{C}}$	/10 ml R	cpm $\frac{^3\text{H}}{^{14}\text{C}}$	/10 ml R
T-1	0-10	10,0	28 100 68 000	0,41	504 000 63	100
T-2	10-15	10,0	7 850 29 900	0,26	87 500 20	100
T-3	15-20	10,0	3 810 15 500	0,25	40 900 31	100
T-4	20-25	10,0	2 340 9 910	0,24	28 600 22	100
T-5	25-30	16,0	1 510 7 880	0,19	19 200 13	100
P	9-14	8,8	144 160	0,96	102 26	3,9

$$R = \frac{\text{cpm } ^3\text{H}}{\text{cpm } ^{14}\text{C}}$$

Tab.2. Steroid-sulfatide und Steroid-glucuronoside in
venösem Schilddrüsen- und peripherem Plasma.

PROBE	ZEIT	ml	Steroid-sulfatide		Steroid-glucuronoside	
	Min.		cpm $\frac{^3\text{H}}{^{14}\text{C}}$ - - /10 ml	R	cpm $\frac{^3\text{H}}{^{14}\text{C}}$ - - /10 ml	R
T-1	0-10	10,0	1 670 0	100	651 25	26
T-2	10-15	10,0	584 0	100	177 40	4,4
T-3	15-20	10,0	423 2	100	14 16	0,9
T-4	20-25	10,0	271 0	100	47 81	0,6
T-5	25-30	16,0	384 4	96	46 74	0,6
P	9-14	8,8	625 130	4,8	92 94	1,0

$$R = \frac{\text{cpm } ^3\text{H}}{\text{cpm } ^{14}\text{C}}$$

Tab.3. C₁₉- und C₁₈-Steroide aus den Fraktionen der freien Steroide.

STEROID	FREIE STEROIDE	
	cpm $\frac{^3\text{H}}{^{14}\text{C}}$	R
Dehydroepiandrosteron	428 000 33	100
Androstendiol	24 400 9	100
16-OH-Dehydroepiandrosteron	4 170 0	100
Androstentriol	8 680 4	100
Androstendion	18 200 31	100
Testosteron	3 050 14	100
Androsteron	6 550 24	100
Ätiocholanolon	2 760 19	100
Östron	(505 0)	100
Östradiol	(403 10)	40
Östriol	(308 2)	100

$$R = \frac{\text{cpm } ^3\text{H}}{\text{cpm } ^{14}\text{C}}$$

Tab.4. C₁₉- und C₁₈-Steroide aus den Fraktionen der
sulfokongjugierten Steroide.

STEROID	sulfokongjugierte Steroide	
	cpm $\frac{^3\text{H}}{^{14}\text{C}}$	R
Dehydroepiandrosteron	428 000 33	100
Androstendiol	24 400 9	100
16-OH-Dehydroepiandrosteron	4 170 0	100
Androstentriol	8 680 4	100
Androstendion	18 200 31	100
Testosteron	3 050 14	100
Androsteron	6 550 24	100
Ätiocholanolon	2 760 19	100
Östron	(505 0)	100
Östradiol	(403 10)	40
Östriol	(308 2)	100

$$R = \frac{\text{cpm } ^3\text{H}}{\text{cpm } ^{14}\text{C}}$$

Tab.5. Spezifische Aktivität einzelner, aus der Fraktion
der Steroid-sulfate isolierter C₁₉-Steroide.

STEROID	Ipm ³ H/ug nach Chromatographie in		
	1	2	3
Dehydroepiandrosteron- 2,4-diphenylhydrazon	5 020	4 860	5 110
Androstendiol-acetat	4 420	4 500	
Androstendion- 2,4-diphenylhydrazon	1 075	1 110	1 138
Androsteron- 2,4-diphenylhydrazon	498	512	521
Ätiocholanolon- 2,4-diphenylhydrazon	654	673	

1: Chloroform-Dioxan (94:6 v/v) auf Kieselgel bzw.

Cyclohexan-Essigsäureäthylester (7:3 v/v) auf Kieselgel.

2: Cyclohexan-Butylacetat-Butanol (50:45:5 v/v) auf

Aluminiumoxyd bzw. Benzol-Diisopropyläther (9:1 v/v)
auf Kieselgel.

3: Benzol-Äthanol (19:1 v/v) auf Kieselgel.

VI. Diskussion

Addiert man die Werte der Aktivitätsmessungen der ^3H - und ^{14}C - Aktivität der Proben T-1 bis T-5 aus der Tabelle 1, so ergibt sich, daß in 56 ml Plasma, das aus venösem Schilddrüsenblut gewonnen wurde, 728 896 cpm ^3H und 130 781 cpm ^{14}C nachgewiesen wurden. Die insgesamt infundierte ^3H - Aktivität betrug 495 00 cpm ^{14}C und 2 810 000 cpm ^3H .

Dies bedeutet, daß 26,35% der infundierten ^3H - Aktivität und 27,55% der infundierten ^{14}C - Aktivität in den Plasmaproben T-1 bis T-5 enthalten waren.

Dieses Ergebnis zeigt zugleich aber auch einen beachtlichen Verlust der infundierten Radioaktivitätsmenge.

Diesen Verlust kann man einerseits durch einen Abfluß von venösem Schilddrüsenblut über nicht unterbundene kleine Schilddrüsengefäße erklären, andererseits durch eine längere Verweildauer der markierten Substanzen in der Schilddrüse, als es der Versuchsdauer entsprach. Die Möglichkeit des oben erwähnten Abflusses beweisen die signifikanten Werte der ^3H - und ^{14}C - Aktivität im peripheren Plasma.

Die restliche, in der Schilddrüse verbliebene Aktivität wurde nicht gemessen. Durch das verzögerte Erscheinen der ^{14}C - Aktivität im Schilddrüsenvenenblut gegenüber der ^3H - Aktivität, kann eine gewisse Speicherung freier Steroide im Schilddrüsen Gewebe nicht ausgeschlossen werden. In der Probe T-1 fanden sich 14% der injizierten ^{14}C - Aktivität und 19% der injizierten ^3H - Aktivität, wohingegen in der Probe T-5 nur 1,9% ^{14}C - Aktivität und 0,8% der ^3H - Aktivität gefunden wurden.

Auch betreffs der für den Metabolismus verantwortlichen Enzyme kann man mit Hilfe der gemessenen ^{14}C - und ^3H -Aktivitäten gewisse Rückschlüsse ziehen. Die gemessene ^3H -Aktivität in der Fraktion der freien Steroide deutet auf das Vorhandensein einer Steroid-sulfatase im Schilddrüsengewebe hin. Demgegenüber zeigt die Fraktion der sulfokonjugierten Steroide keine signifikante ^{14}C -Aktivität, wodurch auf ein Fehlen einer Steroid-sulfokinase im Schilddrüsengewebe geschlossen werden kann.

Ebenfalls zu verneinen ist die Anwesenheit einer Diglycerid-Transferase, die die Umwandlung von Steroid-sulfaten in Steroid-sulfatide bewirkt, sowie einer Steroid-glucuronosyl-Transferase.

Betrachtet man den Metabolismus von Dehydroepiandrosteron und Dehydroepiandrosteron-sulfat, wie er in Abb.1 aufgeführt ist (Abb.1), so ergibt sich aus der Tabelle 2., daß 30% der ^{14}C - und 31% der ^3H -Aktivität der markierten freien Steroide auf Metaboliten des Dehydroepiandrosterons entfallen. Im Gegensatz dazu stellten die Metaboliten des Dehydroepiandrosterons nur 14% der ^3H -markierten Steroid-sulfate. Dies bedeutet einen bevorzugten Metabolismus der freien Steroide.

In Anbetracht des Fehlens einer Sulfokinaseaktivität muß also angenommen werden, daß die verschiedenen Metaboliten in der Fraktion der Sulfokonjugate durch "direkte" Umwandlung aus Dehydroepiandrosteron-sulfat entstanden, das heißt ohne Spaltung der Schwefelsäure-esterbindungen.

Unter den verschiedenen Metaboliten, die aus den Fraktionen der freien und sulfokonjugierten Steroiden isoliert werden konnten, erwies sich Androstendiol als das wichtigste C₁₉- Steroid, gefolgt von Androstendion und Androstentriol.

Androsteron und Ätiocholanolon besaßen wesentlich geringere Aktivität.

Außerdem aber zeigte sich in der Fraktion der Östrogene eine signifikante ¹⁴C- und ³H- Aktivität. Aus dieser Fraktion wurden Östron, Östradiol und Östriol isoliert und einwandfrei identifiziert.

Was die Charakterisierung der verschiedenen, isolierten C₁₈- und C₁₉- Steroide angeht, so gelang bei ausreichender ³H- Aktivität der Nachweis einer konstanten spezifischen Aktivität im Verlauf zusätzlicher chromatographischer Reinigung, der die Identität einzelner Verbindungen bestätigt.

VII. Zusammenfassung

Bei der in-vivo Perfusion menschlichen Schilddrüsen-Strumagewebes mit 4-¹⁴C- Dehydroepiandrosteron und 7a-³H- Dehydroepiandrosteron-sulfat zeigte es sich, daß unter physiologischen Bedingungen eine beachtliche Hydrolyse von Steroid-sulfat eintrat.

Demgegenüber ließ sich keine Steroid-sulfokinase oder Steroid-glucuronosyl-transferase nachweisen.

Der Anteil der Metaboliten erreichte in der Fraktion der freien Steroide ungefähr 30% isolierter Verbindungen, in der Fraktion der Steroid-sulfate jedoch nur etwa 14%.

Androstendiol erwies sich als wichtigster Metabolit, gefolgt von Androstendion und Androstentriol.

Das Vorkommen von radioaktiv markierten Östrogenen zeigt die Notwendigkeit, durch weitere Experimente das Vorhandensein einer Steroid-aromatase-aktivität in der menschlichen Schilddrüse nachzuweisen.

VIII. Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen:

Abb.1. : Biosynthese und Metabolismus von Dehydroepi- androsteron (DHEA).....	3
Abb.2. : Dehydroepiandrosteron und seine Stoffwechsel- produkte.....	4
Tab.1. : Freie Steroide und Steroid-sulfate in venösem Schilddrüsen und peripherem Plasma.....	16
Tab.2. : Steroid-sulfatide und Steroid-glucuronoside in venösem Schilddrüsen- und peripherem Plasma.	17
Tab.3. : C ₁₉ - und C ₁₈ - Steroide aus den Fraktionen der freien Steroide.....	18
Tab.4. : C ₁₈ - und C ₁₉ - Steroide aus den Fraktionen der sulfokonjugierten Steroide.....	19
Tab.5. : Spezifische Aktivität einzelner, aus den Fraktionen der Steroid-sulfate isolierter C ₁₉ - Steroide...	20

IX. Literaturverzeichnis

1. BAULIEU, E.E.: Three sulfats esters of 17-keto-steroids in the plasma of normal subjects and after administration of ACTH.
J. clin. Endocr. Metab. (Springfield) 20, 900-904 (1960)
2. BAULIEU, E.E, DRAY, F.: Conversion of 3-H DHEA-sulfate to 3-H oestrogenes in normal pregnant women.
J. clin. Endocr. Metab. 23, 1298 (1963)
3. BENES, P., FREUND, R., MENZEL, P., STARKA, L. and OERTEL, G.W.: Inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase by steroids.
I. Effects of 3 β -hydroxy- Δ^5 -steroids of the C₁₉- and C₂₁-series upon human red blood cell glucose-6-phosphate dehydrogenase.
J. Steroid. Biochem. 1, 287-290 (1970)
4. BENES, P., R. SIMSONY and G.W. OERTEL:
Inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase in intact human erythrocytes by dehydroepiandrosterone and its conjugates.
Steroidologia 2, 52-56 (1971)

5. BREGENZER, M., B. MORSCHES, H. HOLZMANN und G.W. OERTEL:
Steroide und Haut. VII. Ausscheidung
von C₁₉- und C₁₈- Steroiden in Stuhl
und Harn bei Psoriasis vulgaris nach
Gabe von (7a-³H) 3β-Hydroxy-5-androsten-17-
on-(³⁵S)sulfat.
Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem.
352, 549-554 (1971)
6. BOLTE, E., S. MANCUSO, C. ERIKSON, N. WIKQUIST and
E. DICZFALUZY:
Studies on the aromatisation of neutral
steroids in pregnant women.
I. Aromatisation of C₁₉-steroids by
placentas perfused in situ.
Acta endocr. (K'hvn), 45, 535-559 (1964)
7. BUTENANDT, A. und TSCHERNIG, K.:
Über Androsteron, ein kristallisiertes
männliches Sexualhormon. I. Isolierung
und Reindarstellung aus Männerharn (Göttingen)
Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem.
229, 167-184 (1934)
8. CALVIN, H., R. VAN DE WIELE and S. LIEBERMANN:
In vivo conversion of pregnenolone-
sulfate(³⁵S) to DHEA-sulfate(³⁵S).
Biochem. 2, 648 (1963).

9. EIK-NES, K.B., OERTEL, G.W., R. NIEMER and F.H. TYLER:
Effect of human chorionic gonadotropin
on plasma concentration of 17-hydroxy-
corticosteroids, DHEA and Androsterone
in man.
J. clin. Endocrin. Metab. 19, 1405 (1959)
10. HOFFMAN, G., P. MENZEL, G.W. OERTEL, B. MORSCHES und
H. HOLZMANN: Steroide und Haut.
X. Stoffwechsel von 7α - 3 H-DHEA-sulfat bei
Psoriasis vulgaris vor und nach Gabe von
DHEA-sulfat.
Arch. Derm. Forsch., im Druck.
11. HOFFMANN, G., B. MORSCHES, U. DÖHLER, H. HOLZMANN und
G.W. OERTEL: Steroide und Haut. VIII.
In-vitro-Versuche mit 7α - 3 H-DHEA und seinen
Sulfokonjugaten an intakten Erythrocyten
bei Psoriasis vulgaris.
Arch. Derm. Forsch., im Druck.
12. HOLZMANN, H., B. MORSCHES, R. GEBHARDT, G. HOFFMANN,
P. MENZEL, G.W. OERTEL: Untersuchungen
zum DHEA-Gehalt im Plasma von Psoriatikern.
Zschr. Haut - Geschl. Kr. 45, 579-590 (1970)
13. HOLZMANN, H., B. MORSCHES, R. KRAPP, G.W. OERTEL und
P. MENZEL: Kann die Schuppenflechte als
DHEA-Mangelsyndrom aufgefaßt werden?
Zschr. Haut - Geschl. Kr. 46, 785-794 (1971)
14. HOLZMANN, H. und N. HOEDE: Das Psoriasis-Problem in
heutiger Sicht.
Hippokrates 43, 73-94 (1972)

15. KNAPSTEIN, P., F. WENDLBERGER, P. MENZEL und G.W. OERTEL:
In-vivo Perfusion eines menschlichen
Testis mit (4-¹⁴C)Androstenolon und
(7a-³H)Androstenolon-(³⁵S)sulfat.
Hoppe Seyler's Zschr. physiol. Chemie
348, 990-994 (1967)
16. KNAPSTEIN, P., F. WENDLBERGER, P. MENZEL, L. TREIBER
und G.W. OERTEL: Biosynthese von
Steroidhormonen in menschlichen Gonaden.
IV. In-vivo Perfusion eines Testis mit
(7a-³H)progesteron und (4-¹⁴C)Androstenolon.
Hoppe Seyler's Zschr. physiol. Chem.
348, 1066-1072 (1967)
17. MC DONALD, P.C., R. VAN DE WIELE and S. LIEBERMANN:
Precursors of the urinary 11-desoxy-17-
ketosteroids: Influence of the level of
secretion of dehydroisoandrosterone upon
its metabolits.
J. clin. Endocr. 22, 1222-1228 (1962)
18. MC DONALD, P.C., R. VAN DE WIELE, S. LIEBERMANN:
Influence of daily variation in the
metabolism of dehydroisoandrosterone
upon the determination of its secretory
rate.
J. clin. Endocr. 22, 1229-1233 (1962)
19. MAC KERNS, K.W. and E. KALEITH:
Inhibition of glucose-6-phosphate dehydro-
genase by hormones.
Biochem. biophys. Res. Comm. 2, 344-348
(1960)

20. MARKS, P.A. and J. BANKS:

Inhibition of mammalian glucos-6-phosphate dehydrogenase by steroids.
Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 46,
442-452 (1960)

21. MARKS, P.A., A. SZEINBERG and J. BANKS:

Erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase of normal and mutant human subjects.
J. biol. Chem. 236, 10-17 (1961)

22. MENZEL, E., MENZEL, P. und G.W. OERTEL:

Hemmung der Glucose-6-Phosphatdehydrogenase in menschlichem Hirngewebe, VI. Einwirkung von Androstenolon und seinen Konjugaten auf die Aktivität der Glucose-6-Phosphatdehydrogenase.
Hoppe Seyler's Zschr. physiol. Chem. 351, 759-760 (1970)

23. MENZEL, P., M. GOBBERT and G.W. OERTEL:

Effects of DHEA and its conjugates upon the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase in human placenta.
Hormone Metab. Res. 2, 225-227 (1970)

24. MENZEL, P. und G.W. OERTEL:

Inhibition of testicular glucose-6-phosphate dehydrogenase by dehydroepiandrosterone and its conjugates.
Clin. chem. Acta (Amst.) 29, 195-196 (1970)

25. MENZEL, P., L. PENZES, U. MATZANDER und G.W. OERTEL:
In-vivo Perfusion of human lung tissue
with 7a-³H-dehydroepiandrosterone ³⁵S-
sulfate. Metabolism of steroid conjugates.
VI. Sep. Experientia 26, 657-659 (1970)
26. MORATO, T., A.E. LEMUS and C. GUAL:
Efficiency of dehydroepiandrosterone-
sulfate as an estrogen precursor (1).
Steroids. Suppl. 1, 59-74 (1965)
27. NEISER, J., W. RINDT, P. KNAPSTEIN, G.W. OERTEL:
Freie und konjugierte Steroide im Plasma,
Galle und Harn des Meerschweinchens nach
Gabe von ³H-markiertem DHEA, DHEA-sulfat
und DHEA-sulfatid.
Europ. J. Steroids 1, 15 (1966)
28. OERTEL, G.W.: Über Steroid-Konjugate im Plasma. XVII.
Isolierung und Charakterisierung lipophiler
Steroid-Konjugate aus Nebennierenrinden-
gewebe, Plasma und Liquor.
Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chemie
343, 276-281 (1966)
29. OERTEL, G.W. und L. BECK:
In-vivo Perfusion des menschlichen Ovars
mit (7a-³H)Androstenolon-sulfatid.
Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chemie
352, 689-694 (1971)

30. OERTEL, G.W., K. GROOT and D. WENZEL:

On lipophile steroid conjugates, II.
In-vivo biogenesis of estrogens from
biosynthetic dehydroepiandrosterone-
sulfatide.

Acta endocr. (K'hvn), 49, 533-540 (1965)

31. OERTEL, G.W., H. JAKOBS und P. MENZEL:

In-vivo Perfusion des menschlichen Gehirns
mit (7a-³H)Androstenolon-sulfatid.

Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chemie
352, 695-699 (1971)

32. OERTEL, G.W., G. MAPPES and W. WORTMANN:

Metabolism of steroid conjugates. VI.

In-vivo perfusion of the human liver with
synthetic 7a-³H-dehydroepiandrosterone-
sulfatide.

Hormone and Metabolic Research 3,
193-196 (1971)

33. OERTEL, G.W., P. MENZEL and D. BAUKE:

Effects of dehydroepiandrosterone and
its conjugates upon the activity of
glucose-6-phosphate dehydrogenase, II.

Clin. chem. Acta (Amst.) 27, 197-201 (1970)

34. OERTEL, G.W., P. MENZEL and D. BAUKE:

Effects of dehydroepiandrosterone and
its conjugates upon the activity of glucose-
6-phosphate dehydrogenase, III. Inhibition
of glucose-6-phosphate dehydrogenase in
human ovarian tissue.

Steroidologia 1, 2-7 (1970)

35. OERTEL, G.W., P. MENZEL, G. HOFFMANN, H. HOLZMANN,
B. MORSCHES und R. GEBHARDT: Steroide
und Haut. V. Dehydroepiandrosteron im
Plasma und Glucose-6-phosphat-Dehydro-
genase-Aktivität in Erythrocyten vor und
nach Gabe von Dehydroepiandrosteron-sulfat.
Zschr. Klin. Chem. u. Klin. Biochem.
9, 28-30 (1971)
36. OERTEL, G.W. und K. GROOT:
Über Steroid-Konjugate im Plasma, XIII.
Isolierung, Eigenschaften und Zusammen-
setzung eines biosynthetischen,
lipophilen DHEA-Konjugates.
Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem.
341, 1-9 (1965)
37. OERTEL, G.W., and I. REBELEIN:
Effects of dehydroepiandrosterone and
its conjugates upon the activity of
glucose-6-phosphat dehydrogenase, I.
Inhibition of human red blood cell
glucose-6-phosphate dehydrogenase.
J. Steroid Biochem. 1, 93-97 (1970)
38. OERTEL, G.W. and I. REBELEIN:
Effects of dehydroepiandrosterone and
its conjugates upon the activity of
glucose-6-phosphate dehydrogenase in
human erythrocytes.
Biochem. biophys. Acta (Amst.) 184,
495-460 (1969)

39. OERTEL, G.W., F. WENDLBERGER, P. MENZEL, L. TREIBER
und P. KNAPSTEIN: Biosynthesis of
steroid hormones in human gonads. III.
In-vivo perfusion of the testis with
dehydroepiandrosteron-sulfate.
Eur. J. Steroids, 2, 299-316 (1967)
40. OERTEL, G.W., TREIBER, L., D. WENZEL, P. KNAPSTEIN,
F. WENDLBERGER and P. MENZEL: In-vivo
perfusion of the human ovary with
4-¹⁴C-dehydroepiandrosterone-³⁵S-
sulfate. Biosynthesis of Steroid
hormones in human gonads. V.
Sep. Experientia 24, 607-609 (1968)
41. OKITA, G.J., J.J. KABARA, F. RICHARDSON and G.V. LE ROY:
Assaying compounds containing ³H and
¹⁴C.
Nucleonics 15, 111-115 (1957)
42. SONKA, J., I. GREGOROVA, M. JIRANEK, F. KÖLBEL
und Z. MATYS: Defekt des DHEA - Ein
neues Syndrom?
Endokrinologie 47, 152-161 (1965)

Herrn Professor Dr. med. Volker Friedberg, Direktor der Universitäts-Frauenklinik Mainz, bin ich für die Arbeitsmöglichkeit an seiner Klinik und die Unterstützung mit Sachmitteln zu Dank verpflichtet.

Herrn Professor Dr. rer. nat. Georg W. Oertel, Abteilungsleiter der Abteilung für experimentelle Endokrinologie Mainz, danke ich für die Überlassung des Themas, sowie die wertvollen Ratschläge und Diskussionen zu dieser Arbeit.

Herrn Professor Dr. med. F. Wendlberger und Herrn Dr. med. P. Menzel, Caritas-Krankenhaus Dillingen /Saar, Chirurgische Abteilung, danke ich für die Überlassung des Untersuchungsmaterials.

Lebenslauf

Am 22.12.1945 wurde ich, Gerhard Schneider, als Kind des Schlossers Gerhard Schneider und dessen Ehefrau Luise Schneider geb. Kaspar, in Bauzing/Krs. Passau geboren. Ich gehöre der Katholischen Kirche an.

Die ersten sechs Jahre meiner Kindheit verbrachte ich in Bauzing/Krs. Passau, dann zog ich mit meinen Eltern nach Hagen/Westf., wo ich vier Jahre die Volksschule besuchte.

Von 1956 bis 1965 besuchte ich das Gymnasium, zuletzt in Koblenz, da meine Eltern ihren Wohnsitz geändert hatten. Am 5.3.1965 bestand ich die Reifeprüfung am Staatl. Neusprachlichen Gymnasium in Koblenz.

Wehrdienst leistete ich vom 1.4.1965 bis zum 31.3.1967 und verließ die Bundeswehr als Leutnant der Reserve.

Im Sommersemester 1967 begann ich das Studium der Medizin an der Johannes Gutenberg - Universität in Mainz, wo ich im Frühjahr 1970 die Ärztliche Vorprüfung und im Sommersemester 1973 das Staatsexamen ablegte. Anschließend begann ich meine Medizinalassistentenzeit an den Universitätskliniken Mainz.

Im September 1972 habe ich die Med. Techn. Assistentin Brigitte Hüllen geheiratet und im Mai 1974 wurde unser Sohn Christian geboren.

Ich werde voraussichtlich Ende August 1974 meine Medizinalassistentenzeit an den Universitätskliniken Mainz beenden und in Ludwigsburg die Ausbildung zum Facharzt für Gynäkologie beginnen.

